

淀,加入 0.5 mL 乙酸酐,室温搅拌 24 h。蒸干溶剂,硅胶柱纯化,环己烷-醋酸乙酯(6:1)洗脱,得 35 mg(得率 92%)无色油状物 V,经波谱分析,确定为化合物 I 的乙酰基衍生物。分子式 $C_{25}H_{36}O_4$, 相对分子质量 402。 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 6.84 (d, 2H, $J = 2.12$ Hz), 6.79 (t, 2H, $J = 2.08$ Hz), 5.39 (m, 2H), 2.64 (t, 2H, $J = 7.59$ Hz), 2.29 (s, 6H), 2.06 (m, 4H), 1.65 (m, 2H), 1.35 (m, 16H), 0.93 (t, 3H, $J = 7.09$ Hz)。 ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$): 168.88, 150.73, 145.21, 129.80, 129.65, 118.74, 112.49, 35.53, 31.66, 30.74, 29.60, 29.20, 29.07, 29.03, 28.85, 27.08, 27.04, 22.53, 20.93, 13.98。MS (CI, NH_3) m/z : 420 ($M + NH_4^+$, 100%)。

References

- [1] Baron-Ruppert G, Luepke N P. Evidence for toxic effects of alkylphenols from *Ginkgo biloba* in the hen's egg test [J]. *Phytomedicine*, 2001, 8(2): 133-138.
- [2] Koch E, Jaggy H, Chatterjee S S. Evidence for immunotoxic effects of crude *Ginkgo biloba* L. leaf extracts using the popliteal lymph node assay in the mouse [J]. *Int J Immunopharmacol*, 2000, 22(3): 229-236.
- [3] Jaggy H, Koch E. Chemistry and biology of alkylphenols from *Ginkgo biloba* L. [J]. *Pharmazie*, 1997, 52(10): 735-738.
- [4] Yu B Y, Liu X N, Zhu S D, et al. The study for the development and utilization of ginkgo exocarp [J]. *Jiangsu Agr Res* (江苏农业研究), 1999, 20(4): 1-6.
- [5] Ghosal S, Sundaram R, Muruganandam A V, et al. The chemistry and action of 6-alkylsalicylates of Indian *Ginkgo biloba* [J]. *Indian J Chem Sec B*, 1997, 36(3): 257-263.
- [6] Itokawa H, Totsuka N, Nakahara K, et al. Antitumor principles from *Ginkgo biloba* L. [J]. *Chem Pharm Bull*, 1987, 35(7): 3016-3020.
- [7] Lytollis W, Scannell R T, An H, et al. 5-Alkylresorcinols from *Hakea trifurcata* that cleave DNA [J]. *J Am Chem Soc*, 1995, 117: 12683-12690.
- [8] Van Beek T A, Wintemans M S. Preparative isolation and dual column high-performance liquid chromatography of ginkgolic acids from *Ginkgo biloba* [J]. *J Chromatogr A*, 2001, 930: 109-117.

枳实挥发油的化学成分分析及其抗菌活性的研究

廖凤霞^{1,2}, 孙冠芸³, 杨致邦⁴, 夏之宁^{1*}

(1. 重庆大学 化学化工学院, 重庆 400044; 2. 太极集团有限公司, 重庆 400010;
3. 重庆中药研究院, 重庆 400065; 4. 重庆医科大学, 重庆 400016)

枳实为芸香科乔木酸橙 *Citrus aurantium* L., 或枸橘(枳)与香橼未成熟果实, 主产于四川、福建、江苏、湖南、浙江、江西等地。其味苦、辛、酸、微寒; 归脾、胃、大肠经。枳实具有破气消积和化痰散痞的功效^[1]。枳实的挥发油有镇静、镇痛、镇咳、祛痰、抗菌及中枢抑制作用^[2]。近年来, 由金黄色葡萄球菌引起的医院内感染越来越多, 临床分离出的这种菌株显示对多种抗生素耐药。金黄色葡萄球菌正成为全球范围内多重耐药的病原菌, 危害极大。枳实挥发油具有抗菌作用, 为从中发现对耐药金葡萄球菌有抑制作用的新的活性成分, 本实验采用水蒸汽蒸馏提取枳实挥发油, 利用 GC-MS 对获得的挥发油的化学成分进行了分析鉴定, 同时研究了枳实挥发油对耐药金葡萄球菌和大肠杆菌的抑制作用。

1 枳实挥发油的提取

枳实购于重庆中药材市场, 经太极集团涪陵制

药厂副主任中药师杨修齐鉴定为枳实。按《中华人民共和国药典》2000 年版(附录 XD)中方法提取挥发油, 得淡黄色油状物。枳实出油率为 0.64%。

2 仪器分析条件

仪器为 GC-17A & GCM S-QP5050A (日本岛津公司)。气相色谱条件: 色谱柱为 DD-17A 50% 的苯-聚硅氧烷 (30 m × 0.5 mm, 0.25 μm) 弹性石英毛细管柱, 柱温 50 (保持 1 min), 以 5 /min 升温至 80, 再以 2 /min 升温至 200, 然后保持至分析完成; 汽化室温度 250; 载气为高纯度氦气; 柱前压 52.43 kPa; 载气流量 1.5 mL/min; 进样量 1 μL; 分流比 50:1。质谱条件: 离子源为电喷雾离子源; 离子源温度为 230; 电子能量 70 eV; 质量范围: 20~400 m/z 。经谱库检索与保留时间相结合鉴定各组峰, 并对色谱峰用面积归一法计算, 求取各组份的百分含量。

* 收稿日期: 2003-06-06

基金项目: 国家自然科学基金(20175038); 教育部高校青年教师奖资助(人教司[2002]123)

* 通讯作者 Tel: (023)65106615 Fax: (023)65106615 E-mail: zhnxia@yahoo.com.cn

3 体外抑菌实验

以氨卞青霉素、青霉素、先锋 V 和卡那霉素的标准抗生素药物纸片(北京天坛药物生物技术开发公司)作为药物对照品。菌株来源:药敏金葡萄球菌来自重庆医科大学微生物室保存的标准菌株(ATCC26112);耐药金葡萄球菌和大肠杆菌为重庆医科大学微生物室收集的临床菌株。

将枳实挥发油用聚山梨酯 80 按 1, 4, 1, 8, 1, 12, 1, 35, 1, 54, 1, 128 的比例稀释,制成无菌样品。将各菌株分别培养 18 h,生理盐水洗下,按比浊法配成 10^5 cfu/mL 菌液,菌液按 1:10 加入营养琼脂中倾注平皿,琼脂厚度约 0.25 cm。然后用直径约 7 mm 的打孔器在琼脂上打孔,孔容积约为 0.18 mL。在孔中加满上述样品,用标准抗生素药物纸片氨卞青霉素、青霉素、先锋 V 和卡那霉素作对照,同时用聚山梨酯 80 作空白对照实验。平皿置 37℃ 培养 24 h 后测量抑菌环,并确定最低抑菌浓度(MIC)。

4 结果与讨论

经 GC-MS 联用仪分析鉴定,枳实挥发油共检出 19 个峰,鉴定出 15 个化合物,占挥发油总量的 93.81%。见表 1 和图 1。枳实挥发油成分以萜类化合物中的单萜为主,分别是柠檬烯、芳樟醇、异松香烯等。单萜广泛存在于高等植物中的分泌组织里,多

数具有较强的香气和生理活性。枳实挥发油中的柠檬烯有镇咳、祛痰、抗菌的作用;芳樟醇有防腐抗菌、抗病毒、镇静的作用^[3]。挥发油中柠檬烯的含量 41.20% 与文献参考值 80% 有较大差异^[4],可能与产地、采摘时间或储存方式等相关,这对研究枳实的指纹图谱有参考价值。柠檬烯含量高低对枳实挥发油抗菌活性的影响,以及其他成分在抗菌活性中所发挥的协同或拮抗作用,有待进一步研究。

表 1 枳实挥发油的化学成分

Table 1 Constituents of volatile oil from *Fructus Aurantii Immaturus*

峰号	化合物名称	含量/%
1	α -水茴香萜	0.35
2	α -蒎烯	1.52
3	桉烯	1.07
4	β -蒎烯	1.10
5	β -香叶烯	2.67
6	α -松油烯	0.68
7	柠檬烯	41.20
8	3, 7-二甲基, 1, 3, 6-辛三烯	0.47
9	3-异丙基甲苯	0.94
10	γ -松油烯	3.95
11	异松香烯	7.32
12	芳樟醇	26.10
13	4-松油醇	0.56
14	α -松油醇	0.32
15	1, 3, 3-三甲基-2-乙烯基-环己烯	5.56

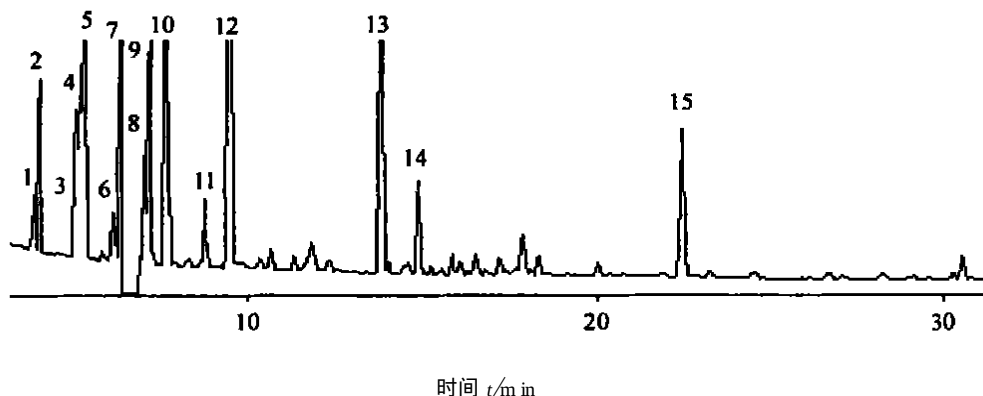


图 1 枳实挥发油的 GC-MS 总离子流色谱图

Fig. 1 Total ion chromatogram of volatile oil from *Fructus Aurantii Immaturus* by GC-MS

体外抑菌实验所得结果见表 2。在大肠杆菌和金葡萄的菌液浓度为 10^4 cfu/mL 的平皿上,聚山梨酯 80 无抑菌环,说明样品所用溶剂不对实验产生干扰。氨卞青霉素、先锋 V 对金葡萄菌中药敏菌株的抑菌环大于耐药菌株,而青霉素对耐药菌株不出现抑菌环,说明临床分离所得的金葡萄球菌对青霉素、氨卞青霉素、先锋 V 具有不同程度的耐药性。枳实挥发油对药敏菌株与耐药菌株的抑菌环大小相近,说明对二者的抑菌程度相同,实验所得的最低抑菌

浓度均为 32.3 mg/mL。枳实挥发油对大肠杆菌无抑制作用。由此可知,枳实挥发油对金葡萄球菌的抗菌作用机制,与对照药品 β -内酰胺类抗生素不同。目前金葡萄球菌仍是细菌性感染的主要病原菌之一,占临床分离菌的 10%~20%^[5]。这类细菌中的耐药菌株对多种抗菌药物呈现耐药性,成为治疗了上的难题。枳实挥发油对耐药金葡萄球菌有抑制作用,为其用于临床治疗耐药金葡萄球菌感染提供了依据。此外,对枳实挥发油中各化学组份进行分离,并追踪

表 2 枳实挥发油的抑菌结果

Table 2 Antibacterial activities of volatile oil from *Fructus Aurantii Immaturus*

菌种名称	药 品	抑菌圈(d/mm)
大肠杆菌	枳实挥发油	0
	卡那霉素	15
金葡萄球菌	枳实挥发油稀释液(1:35)	13
	氨苄青霉素	30
标准菌株 (ATCC26112)	先锋V	42
	青霉素	20
耐药金葡萄 球菌 1	枳实挥发油稀释液(1:35)	10
	氨苄青霉素	20
	先锋V	30
	青霉素	0
耐药金葡萄 球菌 2	枳实挥发油稀释液(1:35)	11
	氨苄青霉素	24
	先锋V	34
	青霉素	0

其活性成分,有助于从天然植物中发现新的抗菌活性成分。

References:

- [1] Fang W X, Song C S, Zhou L X. *Pharmacology for Chinese Materia Medica in Medicine* (医用中药药理学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1998.
- [2] Ke Q M. *Active Constituents and Pharmacological Property of Chinese Herbal Medicine* (中草药有效成分和药理特性) [M]. Changsha: Hunan Science and Technology Publishing House, 1980.
- [3] Sun W J, Shun J F. *Biology Handbook of Natural Active Constituents* (天然活性成分简明手册) [M]. Beijing: China Medico-Pharmaceutical Sciences and Technology Publishing House, 1998.
- [4] Peng W. The quantitative analysis of conservative active principles in *Fructus Aurantii Immaturus* and *Fructus Aurantii* [J]. *Guangxi Light Industry* (广西轻工业), 1996, 1: 29-35.
- [5] Li S L, Zhang Y Y, Zhou L, et al. In vitro activity of 30 antibacterial agents *Staphylococci* isolated clinically [J]. *Chin J Antibiotics* (中国抗生素杂志), 1997, 22(6): 447-450.

杂交贝母非生物碱成分的结构研究

阮汉利, 张勇慧, 皮慧芳, 夏 蓉, 潘旭初, 吴继洲*

(华中科技大学同济医学院药学院, 湖北 武汉 430030)

杂交贝母是以利川贝母 *Fritillaria lichuanensis* P. Li et C. P. Yang 为父本, 湖北贝母 *F. hupehensis* Hisiao et K. C. Hsia 为母本杂交而成, 进行有性繁殖, 且具结实率高, 所结种子饱满, 发芽率高, 病虫害少, 成本低等特点。为评价杂交贝母的药用价值, 扩大贝母资源提供依据, 本实验对杂交贝母化学成分进行了提取、分离和鉴定, 从其非生物碱部位中分离得到 6 种成分, 经与标准品 TLC 对照比较及光谱分析, 鉴定为胡萝卜苷(I), *ent*-kauran-16 β -14-diol(II), β -谷甾醇(III), cholest-5-en-3 β -oxyl hexadecanoate(IV), 硬脂酸(V)和软脂酸(VI), 化合物 I ~ VI 均为首次从杂交贝母中得到。

1 仪器与材料

熔点用 X-4 型显微熔点测定仪测定, 温度未校正; 旋光用 WZZ-1 自动指示旋光仪测定; IR 光谱用岛津 IR-460 测定; $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 光谱用 GE-Omega 600 测定; EIMS 谱用 JEOL JM-S-DX-300 质谱仪测定; 薄层色谱用高效硅胶 H 板和柱色谱用硅胶为青岛海洋化工厂生产; 薄层展开剂为正己烷-醋酸乙酯系统, 显色剂为 5% 茴香醛-硫酸甲醇溶液。杂交贝母药材由湖北省利川市中药材公司彭

德太同志提供。

2 提取与分离

取杂交贝母药材 3.7 kg, 乙醇回流提取, 得总浸膏 85 g。浸膏用 2% HCl 溶液捏溶出生物碱部分, 酸不溶部分用水饱和的醋酸乙酯萃取, 合并醋酸乙酯提取液, 回收醋酸乙酯得浸膏 16 g。以极性递增的石油醚-醋酸乙酯系统和醋酸乙酯-甲醇系统进行反复的硅胶柱色谱, 得到 I ~ VI 等 6 个化合物。

3 结构鉴定

化合物 I: 灰白色粉末(EtOAc), mp 298 ~ 301, 其红外光谱数据与文献报道的 β -胡萝卜苷相一致^[1]。与 β -胡萝卜苷标准品做 TLC 比较, 二者 R_f 值相同, CO-TLC 分析斑点不分离, 证明 I 为 β -胡萝卜苷(daucosterol)。

化合物 II: 无色针晶(EtOAc), mp 188 ~ 189, $[\alpha]_D^{25}$ -38.4(c, 0.76, CHCl₃)。HR-MS 测得分子式 C₂₀H₃₄O₂, 相对分子质量 306.2597。IR: 3400, 1080, 1040, 3000-2840, 1478-1435, 1385, 1365。EIMS: 分子离子峰 M⁺ 306, 主要碎片峰 m/z: 288[M - H₂O]⁺, 275[M - CH₂OH]⁺, 257[M - OH - CH₂OH]⁺, 123。II 的 $^1\text{H-NMR}$ 及 $^{13}\text{C-NMR}$ 数

* 收稿日期: 2003-04-20
基金项目: 湖北省卫生厅资助项目(11299001)